

# TRAITE DE COOPERATION EN MATIERE DE BREVETS

Expéditeur: le BUREAU INTERNATIONAL

PCT

## NOTIFICATION D'ELECTION (règle 61.2 du PCT)

Date d'expédition (jour/mois/année)  
20 novembre 2000 (20.11.00)

Destinataire:

Commissioner  
US Department of Commerce  
United States Patent and Trademark  
Office, PCT  
2011 South Clark Place Room  
CP2/5C24  
Arlington, VA 22202  
ETATS-UNIS D'AMERIQUE

en sa qualité d'office élu

Demande internationale no  
PCT/FR00/00966

Référence du dossier du déposant ou du mandataire  
MJPcb539/90

Date du dépôt international (jour/mois/année)  
14 avril 2000 (14.04.00)

Date de priorité (jour/mois/année)  
14 avril 1999 (14.04.99)

Déposant

BONNIN, Estelle etc

1. L'office désigné est avisé de son élection qui a été faite:

dans la demande d'examen préliminaire international présentée à l'administration chargée de l'examen préliminaire international le:

25 octobre 2000 (25.10.00)

dans une déclaration visant une élection ultérieure déposée auprès du Bureau international le:

2. L'élection  a été faite

n'a pas été faite

avant l'expiration d'un délai de 19 mois à compter de la date de priorité ou, lorsque la règle 32 s'applique, dans le délai visé à la règle 32.2b).

Bureau international de l'OMPI  
34, chemin des Colombettes  
1211 Genève 20, Suisse

Fonctionnaire autorisé

Kiwa Mpay

no de télécopieur: (41-22) 740.14.35

no de téléphone: (41-22) 338.83.38

## TRAITE DE COOPERATION EN MATIERE DE BREVETS

## PCT

## RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

(article 18 et règles 43 et 44 du PCT)

Référence du dossier du déposant ou du mandataire MJPcb539/90	<b>POUR SUITE</b> voir la notification de transmission du rapport de recherche internationale (formulaire PCT/ISA/220) et, le cas échéant, le point 5 ci-après <b>A DONNER</b>	
Demande internationale n° PCT/FR 00/ 00966	Date du dépôt international(jour/mois/année) 14/04/2000	(Date de priorité (la plus ancienne) (jour/mois/année) 14/04/1999
Déposant  <b>INSTITUT NATIONAL DE LA RECHERCHE AGRONOMIQUE ...</b>		

Le présent rapport de recherche internationale, établi par l'administration chargée de la recherche internationale, est transmis au déposant conformément à l'article 18. Une copie en est transmise au Bureau international.

Ce rapport de recherche internationale comprend 3 feuilles.



Il est aussi accompagné d'une copie de chaque document relatif à l'état de la technique qui y est cité.

**1. Base du rapport**

a. En ce qui concerne la **langue**, la recherche internationale a été effectuée sur la base de la demande internationale dans la langue dans laquelle elle a été déposée, sauf indication contraire donnée sous le même point.

la recherche internationale a été effectuée sur la base d'une traduction de la demande internationale remise à l'administration.

b. En ce qui concerne les **séquences de nucléotides ou d'acides aminés** divulguées dans la demande internationale (le cas échéant), la recherche internationale a été effectuée sur la base du listage des séquences :

contenu dans la demande internationale, sous forme écrite.

déposée avec la demande internationale, sous forme déchiffrable par ordinateur.

remis ultérieurement à l'administration, sous forme écrite.

remis ultérieurement à l'administration, sous forme déchiffrable par ordinateur.

La déclaration, selon laquelle le listage des séquences présenté par écrit et fourni ultérieurement ne va pas au-delà de la divulgation faite dans la demande telle que déposée, a été fournie.

La déclaration, selon laquelle les informations enregistrées sous forme déchiffrable par ordinateur sont identiques à celles du listage des séquences présenté par écrit, a été fournie.

2.  **Il a été estimé que certaines revendications ne pouvaient pas faire l'objet d'une recherche** (voir le cadre I).

3.  **Il y a absence d'unité de l'invention** (voir le cadre II).

4. En ce qui concerne le **titre**,



le texte est approuvé tel qu'il a été remis par le déposant.



Le texte a été établi par l'administration et a la teneur suivante:

5. En ce qui concerne l'**abrégé**,



le texte est approuvé tel qu'il a été remis par le déposant



le texte (reproduit dans le cadre III) a été établi par l'administration conformément à la règle 38.2b). Le déposant peut présenter des observations à l'administration dans un délai d'un mois à compter de la date d'expédition du présent rapport de recherche internationale.

6. La figure des **dessins** à publier avec l'abrégé est la Figure n°



suggérée par le déposant.



parce que le déposant n'a pas suggéré de figure.



parce que cette figure caractérise mieux l'invention.



Aucune des figures n'est à publier.

# RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Demande Internationale No

FR 00/00966

A. CLASSEMENT DE L'OBJET DE LA DEMANDE

CIB 7 C12N1/14 C12P7/42 C12P7/24 // (C12N1/14, C12R1:685)

Selon la classification internationale des brevets (CIB) ou à la fois selon la classification nationale et la CIB

B. DOMAINES SUR LESQUELS LA RECHERCHE A PORTE

Documentation minimale consultée (système de classification suivi des symboles de classement)  
CIB 7 C12P C12N

Documentation consultée autre que la documentation minimale dans la mesure où ces documents relèvent des domaines sur lesquels a porté la recherche

Base de données électronique consultée au cours de la recherche internationale (nom de la base de données, et si réalisable, termes de recherche utilisés)

EP0-Internal, WPI Data, PAJ, CHEM ABS Data, BIOSIS, FSTA

C. DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS

Catégorie	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
X	KROON P A ET AL: "RELEASE OF FERULIC ACID FROM SUGAR-BEET PULP BY USING ARABINANASE, ARABINOFURANOSIDASE AND AN ESTERASE FROM ASPERGILLUS NIGER" BIOTECHNOLOGY AND APPLIED BIOCHEMISTRY, US, ACADEMIC PRESS, vol. 23, no. 3, 1996, page 263-267 XP000603360 ISSN: 0885-4513	1-10
Y	abrégé page 264, colonne 1, alinéa 1 ----- -/-	11

Voir la suite du cadre C pour la fin de la liste des documents

Les documents de familles de brevets sont indiqués en annexe

° Catégories spéciales de documents cités:

- "A" document définissant l'état général de la technique, non considéré comme particulièrement pertinent
- "E" document antérieur, mais publié à la date de dépôt international ou après celle date
- "L" document pouvant jeter un doute sur une revendication de priorité ou cité pour déterminer la date de publication d'une autre citation ou pour une raison spéciale (telle qu'indiquée)
- "O" document se référant à une divulgation orale, à un usage, à une exposition ou tous autres moyens
- "P" document publié avant la date de dépôt international, mais postérieurement à la date de priorité revendiquée

- "T" document ultérieur publié après la date de dépôt international ou la date de priorité et n'appartenant pas à l'état de la technique pertinent, mais cité pour comprendre le principe ou la théorie constituant la base de l'invention
- "X" document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme nouvelle ou comme impliquant une activité inventive par rapport au document considéré isolément
- "Y" document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme impliquant une activité inventive lorsque le document est associé à un ou plusieurs autres documents de même nature, cette combinaison étant évidente pour une personne du métier
- "8" document qui fait partie de la même famille de brevets

Date à laquelle la recherche internationale a été effectivement achevée

20 juillet 2000

Date d'expédition du présent rapport de recherche internationale

26/07/2000

Nom et adresse postale de l'administration chargée de la recherche internationale

Office Européen des Brevets, P.B. 5818 Patentlaan 2  
NL - 2280 HV Rijswijk  
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,  
Fax: (+31-70) 340-3016

Fonctionnaire autorisé

Lejeune, R

## RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Demande Internationale No

PCT/FR 00/00966

## C.(suite) DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS

Catégorie	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
Y	LESAGE-MEESEN L ET AL: "Fungal transformation of ferulic acid from sugar beet pulp to natural vanillin" JOURNAL OF THE SCIENCE OF FOOD AND AGRICULTURE., vol. 79, mars 1999 (1999-03), pages 487-490, XP002124793 ELSEVIER APPLIED SCIENCE PUBLISHERS. BARKING., GB ISSN: 0022-5142	11
A	le document en entier ----	1-10
X	MICARD V ET AL: "STUDIES ON ENZYMIC RELEASE OF FERULIC ACID FROM SUGAR-BEET PULP" LEBENSMITTEL WISSENSCHAFT UND TECHNOLOGIE, GB, LONDON, vol. 27, no. 1, 1994, page 59-66 XP000603509 abrégé tableau 3 -----	1-10

## TRAITE DE COOPERATION EN MATIERE DE BREVETS

PCT

NOTIFICATION RELATIVE  
A LA PRESENTATION OU A LA TRANSMISSION  
DU DOCUMENT DE PRIORITE

(instruction administrative 411 du PCT)

Expéditeur : le BUREAU INTERNATIONAL

Destinataire:

VIALLE-PRESLES, Marie-José  
Cabinet Ores  
6, avenue de Messine  
F-75008 Paris  
FRANCE

Date d'expédition (jour/mois/année) 06 juin 2000 (06.06.00)			
Référence du dossier du déposant ou du mandataire MJPcb539/90	<b>NOTIFICATION IMPORTANTE</b>		
Demande internationale no PCT/FR00/00966	Date du dépôt international (jour/mois/année) 14 avril 2000 (14.04.00)		
Date de publication internationale (jour/mois/année) Pas encore publiée	Date de priorité (jour/mois/année) 14 avril 1999 (14.04.99)		
Déposant			
INSTITUT NATIONAL DE LA RECHERCHE AGRONOMIQUE (INRA) etc			

1. La date de réception (sauf lorsque les lettres "NR" figurent dans la colonne de droite) par le Bureau international du ou des documents de priorité correspondant à la ou aux demandes énumérées ci-après est notifiée au déposant. Sauf indication contraire consistant en un astérisque figurant à côté d'une date de réception, ou les lettres "NR", dans la colonne de droite, le document de priorité en question a été présenté ou transmis au Bureau international d'une manière conforme à la règle 17.1.a) ou b).
2. Ce formulaire met à jour et remplace toute notification relative à la présentation ou à la transmission du document de priorité qui a été envoyée précédemment.
3. Un astérisque(\*) figurant à côté d'une date de réception dans la colonne de droite signale un document de priorité présenté ou transmis au Bureau international mais de manière non conforme à la règle 17.1.a) ou b). Dans ce cas, l'attention du déposant est appelée sur la règle 17.1.c) qui stipule qu'aucun office désigné ne peut décider de ne pas tenir compte de la revendication de priorité avant d'avoir donné au déposant la possibilité de remettre le document de priorité dans un délai raisonnable en l'espèce.
4. Les lettres "NR" figurant dans la colonne de droite signalent un document de priorité que le Bureau international n'a pas reçu ou que le déposant n'a pas demandé à l'office récepteur de préparer et de transmettre au Bureau international, conformément à la règle 17.1.a) ou b), respectivement. Dans ce cas, l'attention du déposant est appelée sur la règle 17.1.c) qui stipule qu'aucun office désigné ne peut décider de ne pas tenir compte de la revendication de priorité avant d'avoir donné au déposant la possibilité de remettre le document de priorité dans un délai raisonnable en l'espèce.

<u>Date de priorité</u>	<u>Demande de priorité n°</u>	<u>Pays, office régional ou office récepteur selon le PCT</u>	<u>Date de réception du document de priorité</u>
14 avri 1999 (14.04.99)	99/04644	FR	15 mai 2000 (15.05.00)

Bureau international de l'OMPI 34, chemin des Colombettes 1211 Genève 20, Suisse no de télécopieur (41-22) 740.14.35	Fonctionnaire autorisé:  Yolaine CUSSAC no de téléphone (41-22) 338.83.38
---	--

09/926390  
Translation

PATENT COOPERATION TREATY

PCT

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

(PCT Article 36 and Rule 70)

Applicant's or agent's file reference MJPcb539/90	<b>FOR FURTHER ACTION</b>	SeeNotificationofTransmittalofInternational Preliminary Examination Report (Form PCT/IPEA/416)
International application No. PCT/FR00/00966	International filing date (day/month/year) 14 April 2000 (14.04.00)	Priority date (day/month/year) 14 April 1999 (14.04.99)
International Patent Classification (IPC) or national classification and IPC C12N 1/14		
Applicant INSTITUT NATIONAL DE LA RECHERCHE AGRONOMIQUE (INRA)		

1. This international preliminary examination report has been prepared by this International Preliminary Examining Authority and is transmitted to the applicant according to Article 36.
2. This REPORT consists of a total of <u>6</u> sheets, including this cover sheet.
<input checked="" type="checkbox"/> This report is also accompanied by ANNEXES, i.e., sheets of the description, claims and/or drawings which have been amended and are the basis for this report and/or sheets containing rectifications made before this Authority (see Rule 70.16 and Section 607 of the Administrative Instructions under the PCT). These annexes consist of a total of <u>3</u> sheets.
3. This report contains indications relating to the following items:  I <input checked="" type="checkbox"/> Basis of the report II <input type="checkbox"/> Priority III <input type="checkbox"/> Non-establishment of opinion with regard to novelty, inventive step and industrial applicability IV <input type="checkbox"/> Lack of unity of invention V <input checked="" type="checkbox"/> Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement VI <input type="checkbox"/> Certain documents cited VII <input type="checkbox"/> Certain defects in the international application VIII <input type="checkbox"/> Certain observations on the international application

Date of submission of the demand 25 October 2000 (25.10.00)	Date of completion of this report 06 July 2001 (06.07.2001)
Name and mailing address of the IPEA/EP	Authorized officer
Facsimile No.	Telephone No.

## INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International application No.

PCT/FR00/00966

## I. Basis of the report

## 1. With regard to the elements of the international application:\*

 the international application as originally filed the description:

pages 1-24, as originally filed

pages \_\_\_\_\_, filed with the demand

pages \_\_\_\_\_, filed with the letter of \_\_\_\_\_

 the claims:

pages \_\_\_\_\_, as originally filed

pages \_\_\_\_\_, as amended (together with any statement under Article 19)

pages \_\_\_\_\_, filed with the demand

pages 1-11, filed with the letter of 07 May 2001 (07.05.2001)

 the drawings:

pages 1/3-3/3, as originally filed

pages \_\_\_\_\_, filed with the demand

pages \_\_\_\_\_, filed with the letter of \_\_\_\_\_

 the sequence listing part of the description:

pages \_\_\_\_\_, as originally filed

pages \_\_\_\_\_, filed with the demand

pages \_\_\_\_\_, filed with the letter of \_\_\_\_\_

## 2. With regard to the language, all the elements marked above were available or furnished to this Authority in the language in which the international application was filed, unless otherwise indicated under this item.

These elements were available or furnished to this Authority in the following language \_\_\_\_\_ which is:

 the language of a translation furnished for the purposes of international search (under Rule 23.1(b)). the language of publication of the international application (under Rule 48.3(b)). the language of the translation furnished for the purposes of international preliminary examination (under Rule 55.2 and/or 55.3).

## 3. With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, the international preliminary examination was carried out on the basis of the sequence listing:

 contained in the international application in written form. filed together with the international application in computer readable form. furnished subsequently to this Authority in written form. furnished subsequently to this Authority in computer readable form. The statement that the subsequently furnished written sequence listing does not go beyond the disclosure in the international application as filed has been furnished. The statement that the information recorded in computer readable form is identical to the written sequence listing has been furnished.4.  The amendments have resulted in the cancellation of: the description, pages \_\_\_\_\_ the claims, Nos. \_\_\_\_\_ the drawings, sheets/fig \_\_\_\_\_5.  This report has been established as if (some of) the amendments had not been made, since they have been considered to go beyond the disclosure as filed, as indicated in the Supplemental Box (Rule 70.2(c)).\*\*

\* Replacement sheets which have been furnished to the receiving Office in response to an invitation under Article 14 are referred to in this report as "originally filed" and are not annexed to this report since they do not contain amendments (Rule 70.16 and 70.17).

\*\* Any replacement sheet containing such amendments must be referred to under item 1 and annexed to this report.

## INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International application No.  
PCT/FR 00/00966

## V. Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement

## 1. Statement

Novelty (N)	Claims	1-4, 8-11	YES
	Claims	5-7	NO
Inventive step (IS)	Claims	1-4	YES
	Claims	5-11	NO
Industrial applicability (IA)	Claims	1-11	YES
	Claims		NO

## 2. Citations and explanations

Reference is made to the following documents:

D1: KROON P A ET AL: 'RELEASE OF FERULIC ACID FROM SUGAR-BEET PULP BY USING ARABINANASE, ARABINOFURANOSIDASE AND AN ESTERASE FROM ASPERGILLUS NIGER' BIOTECHNOLOGY AND APPLIED BIOCHEMISTRY, US, ACADEMIC PRESS, vol.23, no.3, 1996, pages 263-267  
XP000603360 ISSN:0885-4513

D2: MICARD V ET AL: 'STUDIES ON ENZYMIC RELEASE OF FERULIC ACID FROM SUGAR-BEET PULP' LEBENSMITTEL WISSENSCHAFT UND TECHNOLOGIE, GB, LONDON, vol.27, no.1, 1994, pages 59-66 XP000603509

D3: LESAGE-MEESEN L ET AL: 'Fungal transformation of ferulic acid from sugar beet pulp to natural vanillin' JOURNAL OF THE SCIENCE OF FOOD AND AGRICULTURE, vol.79, March 1999 (1999-03), pages 487-490, XP002124793 ELSEVIER APPLIED SCIENCE PUBLISHERS. BARKING., GB ISSN:0022-5142

1. Document D1, which is considered to be the prior art closest to Claims 1-4, describes the purification of a ferulate esterase (CinnAE) from *Aspergillus niger* grown on beet pulp, and teaches that, to obtain an actual release of ferulic acid from beet pulp, said

ferulate esterase must be mixed with commercial enzymes capable of decomposing the parietal polysaccharides. D1 does not suggest, indeed to the contrary, that it would be possible to simultaneously induce, in a same culture of *A. niger*, the production of enzymes decomposing the parietal polysaccharides and ferulate esterases. The subject matter of Claims 1-4, which describe a method for obtaining cultures of *A. niger* having these two types of enzymatic activities, is therefore considered to be novel and inventive (PCT Article 33(2) and (3)).

2. 2.1 Document D1 describes an enzymatic preparation consisting of a mixture of ferulate esterase (CinnAE) and suitable commercial carbohydrases decomposing the parietal polysaccharides, likewise extracted from *A. niger*. This preparation, although it is not obtained simultaneously from a same culture of *A. niger*, deprives the subject matter of Claim 5 of novelty (PCT Article 33(2)).
- 2.2 D1 also describes an effective production of ferulic acid from oligosaccharides derived from beet pulp. Consequently, the subject matter of Claims 6-7 does not meet the PCT requirement of novelty insofar as said claims refer to bringing the substrate into contact with "at least one enzymatic preparation according to Claim 5". Said claim is not, however, novel (see preceding paragraph) (PCT Article 33(2)).
- 2.3 The additional features described in dependent Claims 8-9, relating to the concentration of ferulic acid in the *A. niger* culture medium, constitute obvious variations for a person skilled in the art,

and do not therefore involve an inventive step (PCT Article 33(3)).

2.4 The use of cereal bran as the feruloyl substrate in a method for producing ferulic acid does not involve an inventive step because the high content of ferulic acid in cereal bran is a feature well known for a person skilled in the art (see D2, introduction). The subject matter of dependent Claim 10 is not therefore inventive (PCT Article 33(3)).

2.5 Document D3 describes the biotransformation of ferulic acid purified from beet pulp into vanillic acid by *A. niger*. Adding this process appears to be an obvious possibility for a person skilled in the art, and the presence of an inventive step in dependent Claim 11 cannot therefore be established.

TRAITE DE COOPERATION EN MATIERE DE BREVETS

PCT

AVIS INFORMANT LE DEPOSANT DE LA  
COMMUNICATION DE LA DEMANDE  
INTERNATIONALE AUX OFFICES DESIGNES

(règle 47.1.c), première phrase, du PCT)

Expéditeur: le BUREAU INTERNATIONAL

Destinataire:

VIALLE-PRESLES, Marie-José  
Cabinet Ores  
6, avenue de Messine  
F-75008 Paris  
FRANCE

CABINET ORES

27.OCT.2000

Date d'expédition (jour/mois/année) 19 octobre 2000 (19.10.00)	
Référence du dossier du déposant ou du mandataire MJPcb539/90	
Demande internationale no PCT/FR00/00966	Date du dépôt international (jour/mois/année) 14 avril 2000 (14.04.00)
Date de priorité (jour/mois/année) 14 avril 1999 (14.04.99)	
Déposant INSTITUT NATIONAL DE LA RECHERCHE AGRONOMIQUE (INRA) etc	

AVIS IMPORTANT

1. Il est notifié par la présente qu'à la date indiquée ci-dessus comme date d'expédition de cet avis, le Bureau international a communiqué, comme le prévoit l'article 20, la demande internationale aux offices désignés suivants:  
US

Conformément à la règle 47.1.c), troisième phrase, ces offices acceptent le présent avis comme preuve déterminante du fait que la communication de la demande internationale a bien eu lieu à la date d'expédition indiquée plus haut, et le déposant n'est pas tenu de remettre de copie de la demande internationale à l'office ou aux offices désignés.

2. Les offices désignés suivants ont renoncé à l'exigence selon laquelle cette communication doit être effectuée à cette date:  
CA,EP,JP

La communication sera effectuée seulement sur demande de ces offices. De plus, le déposant n'est pas tenu de remettre de copie de la demande internationale aux offices en question (règle 49.1)a-bis)).

3. Le présent avis est accompagné d'une copie de la demande internationale publiée par le Bureau international le 19 octobre 2000 (19.10.00) sous le numéro WO 00/61721

**RAPPEL CONCERNANT LE CHAPITRE II (article 31.2)a) et règle 54.2)**

Si le déposant souhaite reporter l'ouverture de la phase nationale jusqu'à 30 mois (ou plus pour ce qui concerne certains offices) à compter de la date de priorité, la demande d'examen préliminaire international doit être présentée à l'administration compétente chargée de l'examen préliminaire international avant l'expiration d'un délai de 19 mois à compter de la date de priorité.

Il appartient exclusivement au déposant de veiller au respect du délai de 19 mois.

Il est à noter que seul un déposant qui est ressortissant d'un Etat contractant du PCT lié par le chapitre II ou qui y a son domicile peut présenter une demande d'examen préliminaire international.

**RAPPEL CONCERNANT L'OUVERTURE DE LA PHASE NATIONALE (article 22 ou 39.1))**

Si le déposant souhaite que la demande internationale procède en phase nationale, il doit, dans le délai de 20 mois ou de 30 mois, ou plus pour ce qui concerne certains offices, accomplir les actes mentionnés dans ces dispositions auprès de chaque office désigné ou élu.

Pour d'autres informations importantes concernant les délais et les actes à accomplir pour l'ouverture de la phase nationale, voir l'annexe du formulaire PCT/IB/301 (Notification de la réception de l'exemplaire original) et le volume II du Guide du déposant du PCT.

Bureau international de l'OMPI 34, chemin des Colombettes 1211 Genève 20, Suisse	Fonctionnaire autorisé J. Zahra
no de télécopieur (41-22) 740.14.35	no de téléphone (41-22) 338.83.38

## TRAITE DE COOPERATION EN MATIERE DE BREVETS

PCT

REC'D 10 JUL 2001

## RAPPORT D'EXAMEN PRELIMINAIRE INTERNATIONAL PCT

(article 36 et règle 70 du PCT)

Référence du dossier du déposant ou du mandataire MJPcb539/90	<b>POUR SUITE A DONNER</b> voir la notification de transmission du rapport d'examen préliminaire international (formulaire PCT/IPEA/416)	
Demande internationale n° PCT/FR00/00966	Date du dépôt international (jour/mois/année) 14/04/2000	Date de priorité (jour/mois/année) 14/04/1999
Classification internationale des brevets (CIB) ou à la fois classification nationale et CIB C12N1/14		
Déposant INSTITUT NATIONAL DE LA RECHERCHE AGRONOMIQUE ...		
<p>1. Le présent rapport d'examen préliminaire international, établi par l'administration chargée de l'examen préliminaire international, est transmis au déposant conformément à l'article 36.</p> <p>2. Ce RAPPORT comprend 6 feuilles, y compris la présente feuille de couverture.</p> <p><input checked="" type="checkbox"/> Il est accompagné d'ANNEXES, c'est-à-dire de feuilles de la description, des revendications ou des dessins qui ont été modifiées et qui servent de base au présent rapport ou de feuilles contenant des rectifications faites auprès de l'administration chargée de l'examen préliminaire international (voir la règle 70.16 et l'instruction 607 des Instructions administratives du PCT).</p> <p>Ces annexes comprennent 3 feuilles.</p>		
<p>3. Le présent rapport contient des indications relatives aux points suivants:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>I <input checked="" type="checkbox"/> Base du rapport</li> <li>II <input type="checkbox"/> Priorité</li> <li>III <input type="checkbox"/> Absence de formulation d'opinion quant à la nouveauté, l'activité inventive et la possibilité d'application industrielle</li> <li>IV <input type="checkbox"/> Absence d'unité de l'invention</li> <li>V <input checked="" type="checkbox"/> Déclaration motivée selon l'article 35(2) quant à la nouveauté, l'activité inventive et la possibilité d'application industrielle; citations et explications à l'appui de cette déclaration</li> <li>VI <input type="checkbox"/> Certains documents cités</li> <li>VII <input type="checkbox"/> Irrégularités dans la demande internationale</li> <li>VIII <input type="checkbox"/> Observations relatives à la demande internationale</li> </ul>		

Date de présentation de la demande d'examen préliminaire internationale 25/10/2000	Date d'achèvement du présent rapport 06.07.2001
Nom et adresse postale de l'administration chargée de l'examen préliminaire international: Office européen des brevets D-80298 Munich Tél. +49 89 2399 - 0 Tx: 523656 epmu d Fax: +49 89 2399 - 4465	Fonctionnaire autorisé Loubradou-Bourges, N N° de téléphone +49 89 2399 7342



## RAPPORT D'EXAMEN PRÉLIMINAIRE INTERNATIONAL

Demande internationale n° PCT/FR00/00966

## I. Base du rapport

1. En ce qui concerne les éléments de la demande internationale (*les feuilles de remplacement qui ont été remises à l'office récepteur en réponse à une invitation faite conformément à l'article 14 sont considérées dans le présent rapport comme "initialement déposées" et ne sont pas jointes en annexe au rapport puisqu'elles ne contiennent pas de modifications (règles 70.16 et 70.17)*):

**Description, pages:**

1-24 version initiale

### Revendications, N°:

### **Dessins, feuilles:**

1/3-3/3 version initiale

2. En ce qui concerne la **langue**, tous les éléments indiqués ci-dessus étaient à la disposition de l'administration ou lui ont été remis dans la langue dans laquelle la demande internationale a été déposée, sauf indication contraire donnée sous ce point.

Ces éléments étaient à la disposition de l'administration ou lui ont été remis dans la langue suivante: , qui est :

- la langue d'une traduction remise aux fins de la recherche internationale (selon la règle 23.1(b)).
- la langue de publication de la demande internationale (selon la règle 48.3(b)).
- la langue de la traduction remise aux fins de l'examen préliminaire internationale (selon la règle 55.2 ou 55.3).

3. En ce qui concerne les **séquences de nucléotides ou d'acide aminés** divulguées dans la demande internationale (le cas échéant), l'examen préliminaire internationale a été effectué sur la base du listage des séquences :

- contenu dans la demande internationale, sous forme écrite.
- déposé avec la demande internationale, sous forme déchiffrable par ordinateur.
- remis ultérieurement à l'administration, sous forme écrite.
- remis ultérieurement à l'administration, sous forme déchiffrable par ordinateur.
- La déclaration, selon laquelle le listage des séquences par écrit et fourni ultérieurement ne va pas au-delà de la divulgation faite dans la demande telle que déposée, a été fournie.
- La déclaration, selon laquelle les informations enregistrées sous déchiffrable par ordinateur sont identiques à celles du listages des séquences Présenté par écrit, a été fournie.

#### 4. Les modifications ont entraîné l'annulation :

**RAPPORT D'EXAMEN  
PRÉLIMINAIRE INTERNATIONAL**

Demande internationale n° PCT/FR00/00966

de la description,      pages : \_\_\_\_\_

des revendications,      n°s : \_\_\_\_\_

des dessins,      feuilles : \_\_\_\_\_

5.  Le présent rapport a été formulé abstraction faite (de certaines) des modifications, qui ont été considérées comme allant au-delà de l'exposé de l'invention tel qu'il a été déposé, comme il est indiqué ci-après (règle 70.2(c)) :

*(Toute feuille de remplacement comportant des modifications de cette nature doit être indiquée au point 1 et annexée au présent rapport)*

6. Observations complémentaires, le cas échéant :

**V. Déclaration motivée selon l'article 35(2) quant à la nouveauté, l'activité inventive et la possibilité d'application industrielle; citations et explications à l'appui de cette déclaration**

1. Déclaration

Nouveauté	Oui : Revendications 1-4, 8-11 Non : Revendications 5-7
Activité inventive	Oui : Revendications 1-4 Non : Revendications 5-11
Possibilité d'application industrielle	Oui : Revendications 1-11 Non : Revendications

2. Citations et explications  
**voir feuille séparée**

## RAPPORT D'EXAMEN

Demande internationale n° PCT/FR00/00966

## PRELIMINAIRE INTERNATIONAL - FEUILLE SEPAREE

Les pièces suivantes de la demande servent de fondement à l'examen:

Dans la version pour les Etats contractants:

AT BE CH DE DK ES FI FR GB GR IT IE LU MC NL PT SE

**Description, pages:**

1-24 version initiale

### Revendicaciones N°:

1-11 recue(s) avec télecopie du 07/05/2001

### Dessins, feuilles:

1/3-3/3 version initiale

Il est fait référence aux documents suivants:

D1: KROON P A ET AL: 'RELEASE OF FERULIC ACID FROM SUGAR-BEET PULP BY USING ARABINANASE, ARABINOFURANOSIDASE AND AN ESTERASE FROM ASPERGILLUS NIGER' BIOTECHNOLOGY AND APPLIED BIOCHEMISTRY, US, ACADEMIC PRESS, vol. 23, no. 3, 1996, page 263-267 XP000603360 ISSN: 0885-4513

D2: MICARD V ET AL: 'STUDIES ON ENZYMIC RELEASE OF FERULIC ACID FROM SUGAR-BEET PULP' LEBENSMITTEL WISSENSCHAFT UND TECHNOLOGIE, GB, LONDON, vol. 27, no. 1, 1994, page 59-66 XP000603509

D3: LESAGE-MEESEN L ET AL: 'Fungal tranformation of ferulic acid from sugar beet pulp to natural vanillin' JOURNAL OF THE SCIENCE OF FOOD AND AGRICULTURE., vol. 79, mars 1999 (1999-03), pages 487-490, XP002124793 ELSEVIER APPLIED SCIENCE PUBLISHERS, BARKING., GB ISSN: 0022-5142

**SECTION V**

1. Le document D1, qui est considéré comme l'état de la technique le plus proche des revendications 1-4 décrit la purification d'une férulaté estérase (CinnAE) à partir d'*Aspergillus niger* cultivé sur pulpe de betterave, et enseigne que, pour obtenir une libération effective d'acide férulique à partir de pulpe de betterave, cette férulaté estérase doit être mélangée avec des enzymes commerciales capables de dégrader les polysaccharides pariétaux. D1 ne suggère pas, bien au contraire, qu'il soit possible d'induire simultanément, dans une même culture d'*A. niger*, la production d'enzymes dégradant les polysaccharides pariétaux et de férulaté estérases. L'objet des revendications 1-4, décrivant un procédé d'obtention de cultures d'*A. niger* présentant ces deux types d'activités enzymatiques, est donc considéré comme nouveau et inventif (Art. 33(2) et (3) PCT).
2. 2.1 Le document D1 décrit une préparation enzymatique consistant en un mélange de la férulaté estérase CinnAE et de carbohydrases commerciales appropriées dégradant les polysaccharides pariétaux, également extraites d'*A. niger*. Cette préparation, bien que n'étant pas obtenue simultanément d'une même culture d'*A. niger*, est préjudiciable à la nouveauté de l'objet de la revendication 5 (Art. 33(2) PCT).
- 2.2 D1 décrit également une production efficace d'acide férulique à partir d'oligosaccharides dérivés de la pulpe de betterave. En conséquence, l'objet des revendications 6-7, dans la mesure où lesdites revendications se réfèrent à la mise en contact du substrat avec "au moins une préparation enzymatique selon la revendication 5", ladite revendication n'étant pas nouvelle (voir paragraphe précédent), ne satisfait pas aux exigences du PCT en ce qui concerne la nouveauté (Art. 33(2) PCT).
- 2.3 Les caractéristiques additionnelles décrites dans les revendications dépendantes 8-9 concernant la concentration d'acide férulique dans le milieu de culture d'*A. niger* constituent des variations évidentes pour l'homme de métier, n'impliquant pas d'activité inventive (Art. 33(3) PCT).

2.4 L'utilisation de son de céréale comme substrat féruloylé dans un procédé de production d'acide férulique n'implique pas d'activité inventive car la richesse des sons de céréales en acide férulique est une caractéristique bien connue de l'homme de métier (voir D2, introduction). L'objet de la revendication dépendante 10 n'est donc pas inventif (Art. 33(3) PCT).

2.5 Le document D3 décrit la biotransformation de l'acide férulique, purifié à partir de pulpe de betterave, en acide vanillique par *A. niger*. L'addition de ce processus apparaît être une possibilité évidente pour l'homme de métier et ne permet pas d'établir la présence d'une activité inventive dans la revendication dépendante 11.

## REVENDICATIONS

- 1) Procédé d'obtention de cultures d'*Aspergillus niger* à large spectre d'activité enzymatique comprenant des enzymes dégradant les polysaccharides pariétaux et des férulaté estérases, lequel procédé est caractérisé en ce qu'il comprend la mise en culture d'au moins une souche d'*Aspergillus niger* en présence d'au moins une source carbonée inductrice choisie dans le groupe constitué par :
  - 10 - la pulpe de betterave ou au moins une de ses fractions solubles riches en oligosaccharides féruloylés, susceptibles d'être obtenues par hydrolyse acide ;
  - un son de céréale, notamment de maïs, ou un mélange de sons de différentes céréales, ou au moins une de ses fractions solubles riches en oligosaccharides féruloylés, susceptibles d'être obtenues par autoclavage dudit son ou dudit mélange.
- 2) Procédé selon la revendication 1, caractérisé en ce que la source carbonée inductrice est présente dans ledit milieu de culture à une concentration comprise entre 1 et 50 g/L et de préférence entre 2,5 et 30 g/L.
- 25 3) Procédé selon une quelconque des revendications 1 ou 2, caractérisé en ce que la culture d'*Aspergillus niger* comprend au moins la souche CNCM I-1472.
- 4) Procédé d'obtention d'une préparation enzymatique à large spectre d'activité comprenant des enzymes dégradant les polysaccharides pariétaux et des férulaté estérases, caractérisé en ce qu'il comprend la mise en œuvre du procédé selon une quelconque des revendications 1 à 3, et la récupération du surnageant de culture.
- 35 5) Préparation enzymatique, caractérisée en ce qu'elle est susceptible d'être obtenue par le procédé selon la revendication 4.

6) Procédé de production d'acide férulique libre à partir d'un substrat féruloylé, lequel procédé est caractérisé en ce qu'il comprend la mise en contact dudit substrat avec au moins une culture d'*Aspergillus niger* obtenue par le procédé selon une quelconque des revendications 1 à 3, ou avec au moins une préparation enzymatique selon la revendication 5, dans des conditions permettant la libération de l'acide férulique par les enzymes présentes dans ladite culture ou ladite préparation enzymatique.

7) Procédé selon la revendication 6, caractérisé en ce que le substrat féruloylé est choisi parmi :

- la pulpe de betterave ou au moins une de ses fractions solubles riches en oligosaccharides féruloylés, susceptibles d'être obtenues par hydrolyse acide ;

- un son de céréale, notamment de maïs, ou un mélange de sons de différentes céréales, ou au moins une de ses fractions solubles riches en oligosaccharides féruloylés, susceptibles d'être obtenues par autoclavage dudit son ou dudit mélange.

8) Procédé selon une quelconque des revendications 6 ou 7, caractérisé en ce que l'on additionne au milieu de culture d'*Aspergillus niger* une quantité de substrat féruloylé correspondant à 0,1 à 50 g d'acide férulique par litre de milieu de culture.

9) Procédé selon une quelconque des revendications 6 ou 7, caractérisé en ce que l'on mélange la préparation enzymatique avec une quantité de substrat féruloylé correspondant à 0,1 à 40 g d'acide férulique pour 1 gramme de protéines totales de préparation enzymatique.

10) Procédé selon une quelconque des revendications 6 à 9, caractérisé en ce que la culture d'*Aspergillus niger* ou la préparation enzymatique sont produits en présence d'une source carbonée inductrice comprenant de la pulpe de betterave ou au moins une de ses fractions riches en oligosaccharides féruloylés

27

susceptibles d'être obtenues par hydrolyse acide, et on ce que le substrat féruloylé comprend au moins un son de céréale ou au moins une de ses fractions riches en oligosaccharides féruloylés susceptibles d'être obtenues 5 par autoclavage.

11) Procédé selon une quelconque des revendications 6 à 8, ou 10, caractérisé en ce qu'il comprend en outre la bioconversion en acide vanillique, par ladite culture d'*Aspergillus niger*, de l'acide férulique 10 libéré du substrat féruloylé.

## CLAIMS

REPLACED BY  
ART 34 AMNT

1. A process for producing *Aspergillus niger* cultures with a broad spectrum of enzymatic activity, characterized in that it comprises culturing at least one *Aspergillus niger* strain in the presence of at least one inducing carbon-containing source chosen from the group consisting of:
  - 5 - beetroot pulp or at least a soluble fraction thereof rich in feruloylated oligosaccharides, which can be produced by acid hydrolysis;
  - 10 - a cereal bran, in particular a maize bran, or a mixture of brans of various cereals, or at least a soluble fraction thereof rich in feruloylated oligosaccharides, which can be produced by
  - 15 autoclaving said bran or said mixture.
2. The process as claimed in claim 1, characterized in that the inducing carbon-containing source is present in said culture medium at a concentration of between 1 and 50 g/L, and preferably between 2.5 and 30 g/L.
- 20 3. The process as claimed in either of claims 1 and 25 2, characterized in that the *Aspergillus niger* culture comprises at least the CNCM I-1472 strain.
4. A process for producing an enzymatic preparation with a broad spectrum of activity, characterized 30 in that it comprises carrying out the process as claimed in any one of claims 1 to 3, and recovering the culture supernatant.
- 35 5. An enzymatic preparation, characterized in that it can be produced using the process as claimed in claim 4.

6. A process for producing free ferulic acid from a feruloylated substrate, which process is characterized in that it comprises bringing said substrate into contact with at least one *Aspergillus niger* culture produced using the process as claimed in any one of claims 1 to 3, or with at least one enzymatic preparation as claimed in claim 5, under conditions which allow the release of the ferulic acid by the enzymes present in said culture or said enzymatic preparation.
7. The process as claimed in claim 6, characterized in that the feruloylated substrate is chosen from:
  - beetroot pulp or at least a soluble fraction thereof rich in feruloylated oligosaccharides, which can be produced by acid hydrolysis;
  - a cereal bran, in particular a maize bran, or a mixture of brans of various cereals, or at least a soluble fraction thereof rich in feruloylated oligosaccharides, which can be produced by autoclaving said bran or said mixture.
8. The process as claimed in either of claims 6 and 7, characterized in that an amount of feruloylated substrate corresponding to 0.1 to 50 g of ferulic acid per liter of culture medium is added to the *Aspergillus niger* culture medium.
9. The process as claimed in either of claims 6 and 7, characterized in that the enzymatic preparation is mixed with an amount of feruloylated substrate corresponding to 0.1 to 40 g of ferulic acid per gram of total proteins of the enzymatic preparation.
10. The process as claimed in any one of claims 6 to 9, characterized in that the *Aspergillus niger* culture or the enzymatic preparation is produced in the presence of an inducing carbon-containing

source comprising beetroot pulp or at least a fraction thereof rich in feruloylated oligosaccharides, which can be produced by acid hydrolysis, and in that the feruloylated substrate comprises at least one cereal bran or at least a fraction thereof rich in feruloylated oligosaccharides, which can be produced by autoclaving.

10 11. The process as claimed in any one of claims 6 to 8 or 10, characterized in that it also comprises the direct bioconversion of the ferulic acid to vanillic acid by the *Aspergillus niger* culture.